

三种水生植物内生真菌多样性及其抗真菌活性

赵春安 罗珊珊 毕艳艳 李海燕*

(昆明理工大学生命科学与技术学院 云南 昆明 650224)

摘要: 从华凤仙(*Impatiens chinensis* L.)、问荆(*Equisetum arvense* L.)和轮叶狐尾藻(*Myriophyllum verticillatum* L.)3种植物中共分离到内生真菌155株。经鉴定,它们分属于26个不同的分类单元。以杨桃炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、香蕉疫霉(*Phytophthora nicotianae*)和腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)等6种植物病原真菌为指示菌,对3种水生植物内生真菌代谢产物进行抗菌活性研究。结果表明,有37株内生真菌(占分离菌株总数的23.9%)显示出对一种或多种病原菌的抑菌活性。来自华凤仙、问荆和轮叶狐尾藻的抗菌活性菌株比例分别为29.2%、13.9%及37.1%,都远低于已报道的陆生植物内生真菌中活性菌株的比例。抗菌活性菌株主要分布于枝孢属(*Cladosporium*)、木霉属(*Trichoderma*)和地霉属(*Geotrichum*)等5个属中。

关键词: 水生植物, 内生真菌, 枝孢属, 抑菌活性

Diversity of Endophytic Fungi from Three Aquatic Plants and Their Antagonistic Activities *in vitro*

ZHAO Chun-An LUO Shan-Shan BI Yan-Yan LI Hai-Yan*

(Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming, Yunnan 650224, China)

Abstract: 155 endophytic fungi were isolated from *Equisetum arvense* L., *Impatiens chinensis* L. and *Myriophyllum verticillatum* L. They were identified to 26 taxa. The antagonistic activities of these isolates against 6 isolates of plant pathogenic fungi were tested on the medium, and 37(23.9%) isolates were active against one or more phytopathogens. The percentage of antifungal active isolates from *E. arvense* L., *I. chinensis* L. and *M. verticillatum* L. were 13.9%, 29.2% and 37.1%, respectively. It was lower than that of terrestrial plants. The active isolates were mainly belonging to 5 genera including *Cladosporium*, *Trichoderma* and *Geotrichum*.

Keywords: Aquatic plants, Endophytic fungi, *Cladosporium*, Antifungal activity

水生植物^[1](Aquatic plant)是生理上依附于水环境,至少部分生殖周期发生在水中或水表面的植物类群。作为水生生态系统结构和功能的重要组成部分,水生植物是保持水生生态系统良性运行的关键

类群,是良性湖泊生态系统的必要组成部分,并在其中起着重要作用。其作用主要体现在:吸收利用水中的营养物质,输送氧气至根区和维持水力传输,为微生物提供栖息地,维持水生生态系统的稳定,

基金项目: 昆明理工大学人才培养基金项目(No. KKE2007038)

*通讯作者: Tel: 86-871-3801956; E-mail: lhyxrn@hotmail.com

收稿日期: 2009-02-07; 接受日期: 2009-04-21

© 中国科学院微生物研究所期刊联合编辑部 <http://journals.im.ac.cn>

积累有机物质。

内生真菌^[2](Fungal endophyte)是指一类在其部分或全部生活史中存活于健康植物组织内部,而不使宿主植物表现出明显感染症状的微生物。内生真菌可以促进植物的生长发育^[3],提高宿主植物的抗逆性^[4-6],其物质基础可能是内生真菌产生了各种不同的生物活性物质,这些活性物质对于药物开发来说,也具有巨大的应用价值^[7-10]。近年来对水生植物来源的内生真菌及其次生代谢产物在国内外也有所报道,但主要集中在红树林植物^[11-13]和盐碱地植物^[14,15]方面。对于淡水生态系统中的植物内生真菌多样性及其代谢产物的研究目前尚未见报道。本文旨在通过对3种水生植物内生真菌多样性和抗真菌活性的研究,为水生植物-内生真菌的生态关系研究以及水生植物内生真菌资源的利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 水生植物: 华凤仙(*Impatiens chinensis* L.)、问荆(*Equisetum arvense* L.)和轮叶狐尾藻(*Myriophyllum verticillatum* L.)3种植物于2007年10月采自云南省昆明市嵩明县黑龙宫公园内,海拔1890 m。黑龙宫公园内溪水清澈透明,水质一级,有多种水生植物分布。每种植物随机采集10~20株,样品采集后用保鲜袋包好,置于保温盒中带回实验室,24 h内处理样品,进行内生真菌的分离。

1.1.2 病原指示菌: 杨桃炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)YMF1.02570、香蕉疫霉(*Phytophthora nicotianae*)YMF1.02579、香石竹疫霉(*Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*)YMF1.02583、腐皮镰刀菌(*Fusarium solani*)YMF1.02594、黑曲霉(*Aspergillus niger*)YMF1.02601和立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)YMF1.02603由云南大学生物资源保护与利用重点实验室提供。

1.2 方法

1.2.1 内生真菌的分离纯化: 将植物样品在自来水下冲洗干净,剪成0.5 cm×0.5 cm的小块,按下列程序在超净台内进行表面消毒:无菌水冲洗3次,体积分数75%乙醇漂洗3 min~5 min,无菌水冲洗3次,25%NaClO溶液漂洗2 min,无菌水冲洗3次。表面消毒后分别置于PDA平板上,置于28℃培养箱中培养3 d~7 d后,培养基中可见有菌落形成,挑取植物组织块

周围的菌落转接入斜面中,经纯化后即得到内生真菌^[16]。

1.2.2 内生真菌的鉴定: 依据菌落的形态特征,孢子的形态结构和产孢方式进行鉴定^[17]。不产孢的菌株接种到已灭菌的香石竹(*Dianthus caryophyllus*)叶片上进行促孢培养,并通过体视显微镜定期观察产孢情况,产孢后按以上方法进行鉴定。非产孢内生真菌则根据菌落的特征、菌丝的颜色和生长速度分为无孢类群的不同组别。内生真菌的分离频率按以下方法计算^[18]:

$$\text{分离频率}(\%) = \frac{\text{定殖内生真菌的植物组织块数}}{\text{总植物组织块数}} \times 100\%$$

1.2.3 活性菌株的筛选: 将活化好的内生真菌菌株接种于装有100 mL PDA液体培养基的三角瓶中,于28℃、140 r/min摇床培养7 d后,加入等体积的甲醇浸泡过夜,过滤、收集滤液浓缩、定容备用。

抑菌活性试验采用平板扩散法^[19]:首先将活化好的指示菌制成菌悬液,涂布于PDA平板上,然后用直径为0.5 cm的打孔器在涂布有病原菌的平板上对称打孔,最后将20 μL待测样品加入小孔内,每个样品3个重复,用甲醇作空白对照,置于28℃培养箱中培养2 d~5 d后测量抑菌圈直径。

2 结果

2.1 内生真菌菌株的分离结果

从华凤仙、问荆和轮叶狐尾藻3种水生植物中共分离得到内生真菌155株,内生真菌的分离频率分别为41%、28%和63%(表1),与已报道的陆生植物印度苦楝(*Azadirachta indica*)^[20](31.5%~45.5%)和野生香蕉(*Musa acuminata*)^[21](41.7%~56.5%)内生真菌的分离频率接近。这表明内生真菌在水生植物中的定殖也很普遍。经鉴定,它们分属于枝孢属(*Cladosporium*) (25.8%)、镰孢霉属(*Fusarium*) (16.8%)、地霉属(*Geotrichum*) (12.3%)等26个不同的分类单元,其中华凤仙中的优势属为枝孢属(47.9%)和地霉属(16.7%);问荆中的优势属为镰孢霉属(29.2%)和枝孢属(13.9%);轮叶狐尾藻中的优势属为枝孢属(20%)和地霉属(14.3%),见表1。

2.2 内生真菌菌株的抗菌活性

3种植物内生真菌的活性菌株分布在14个属中(表2和表3),其中以枝孢属、无孢类群、木霉属、地霉属和镰孢霉属较多,各占活性菌株的24.3%、18.9%、8.1%、10.8%、13.5%。其余9株分别为毛茎点霉属、

叶痣菌属、链格孢属、头孢霉属、壳二孢属、头珠霉属、革壳孢属、曲霉属和叶点霉属。

华凤仙内生真菌活性菌株分布在 7 个属中, 以枝孢属、地霉属和无孢类群为主, 其内生真菌的抗菌活性主要表现在对杨桃炭疽菌和腐皮镰刀霉的抗性上(占供测菌株的 20.8%); 问荆内生真菌活性菌株分布在 6 个属中, 以镰孢霉属为主; 轮叶狐尾藻内生真菌

活性菌株分布在 7 个属中, 以木霉属和枝孢属为主, 其内生真菌的抗菌活性主要表现在对黑曲霉的抗性上(占供测菌株的 23.6%)。由表 2 还可以看出, 同属的内生真菌对不同的植物病原菌抗菌效果各不相同, 不同属的菌株对同一指示菌的抗菌作用也有较大差别。由以上实验结果可以说明水生植物内生真菌活性菌株的种属分布、活性作用及生态分布具有较大的多样性。

表 1 从 3 种水生植物中分离得到的内生真菌数量、种类及其分离频率
Table 1 No. of isolates, taxa and colonization frequency of endophytic fungi from three aquatic plants

| 分类单元 Taxa | 内生真菌的数量及其分离频率 No. and CF(%) of endophytic fungi | | | | | 总数 Total |
|--|--|----------------------------|-------------------------------------|--|--|--------------|
| | 华凤仙 <i>I. chinensis</i> L. | 问荆 <i>E. arvense</i> L. | 轮叶狐尾藻 <i>M. verticillatum</i> L. | | | |
| 外壳孢属 <i>Aposphaeria</i> sp. | | 1 (1.0) | | | | 1 (1.0) |
| 壳二孢属 <i>Ascochyta</i> sp. | 1 (1.0) | | | | | 1 (1.0) |
| 曲霉属 <i>Aspergillus</i> sp. | 1 (1.0) | | | | | 1 (1.0) |
| 革壳孢属 <i>Catinula</i> sp. | 1 (1.0) | 2 (2.0) | | | | 3 (3.0) |
| 头孢霉属 <i>Cephalosporium</i> sp. | | 5 (5.0) | | | | 5 (5.0) |
| 毛茎点霉属 <i>Chaetophoma</i> sp. | | 6 (6.0) | | | | 6 (6.0) |
| 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. 1 | 5 (5.0) | 2 (2.0) | 6 (6.0) | | | 13 (13.0) |
| 枝状枝孢 <i>C. cladosporioides</i> | 18 (18.0) | 8 (8.0) | 1 (1.0) | | | 27 (27.0) |
| 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. 1 | 1 (1.0) | 14 (14.0) | 4 (4.0) | | | 19 (19.0) |
| 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. 2 | | 7 (7.0) | | | | 7 (7.0) |
| 壳梭孢属 <i>Fusicoccum</i> sp. | | | 1 (1.0) | | | 1 (1.0) |
| 地霉属 <i>Geotrichum</i> sp. | 8 (8.0) | 6 (6.0) | 5 (5.0) | | | 19 (19.0) |
| 盘长孢属 <i>Gloeosporium</i> sp. | | 2 (2.0) | | | | 2 (2.0) |
| 叶痣菌属 <i>Melasmaia</i> sp. | | | 1 (1.0) | | | 1 (1.0) |
| 毛霉属 <i>Mucor</i> sp. | | | 1 (1.0) | | | 1 (1.0) |
| 头珠霉属 <i>Oedocephalum</i> sp. | 1 (1.0) | | 1 (1.0) | | | 2 (2.0) |
| 青霉属 <i>Penicillium</i> sp. | 1 (1.0) | | | | | 1 (1.0) |
| 盘多毛孢属 <i>Pestalotia</i> sp. | | 2 (2.0) | | | | 2 (2.0) |
| 叶点霉属 <i>Phyllosticta</i> sp. | | 1 (1.0) | | | | 1 (1.0) |
| 链格孢属 <i>Sirodesmium</i> sp. | 1 (1.0) | 1 (1.0) | 1 (1.0) | | | 3 (3.0) |
| 痂圆孢属 <i>Sphaceloma</i> sp. | | | 1 (1.0) | | | 1 (1.0) |
| 色串孢属 <i>Torula</i> sp. | | 2 (2.0) | | | | 2 (2.0) |
| 木霉属 <i>Trichoderma</i> sp. | | | 4 (4.0) | | | 4 (4.0) |
| 无孢类群 1 组 Sterile mycelia 1 | 4 (4.0) | 6 (6.0) | 5 (5.0) | | | 15 (15.0) |
| 无孢类群 2 组 Sterile mycelia 2 | 4 (4.0) | 7 (7.0) | 4 (4.0) | | | 15 (15.0) |
| 无孢类群 3 组 Sterile mycelia 3 | 2 (2.0) | | | | | 2 (2.0) |
| 总分类单元数 Total taxa recovered | 13 | 16 | 13 | | | 26 |
| 菌株总数 No. of isolates recovered | 48 | 72 | 35 | | | 155 |
| 定殖内生真菌的植物组织块数 No. of segments yielding fungi(1) | 41 | 63 | 28 | | | 132 |
| 总植物组织块数 Total fragments plated | 100 | 100 | 100 | | | 300 |
| 总分离频率 Total CF (%) | 41 | 63 | 28 | | | 44 |

表 2 三种水生植物内生真菌的抑菌活性
Table 2 The antipathogenic activities of endophytic fungi from three aquatic plants

| 植物 Plants | 菌株 Strains | 分类单元 Taxa | 病原菌 Pathogens | | | | | |
|---|---------------|--------------------------------|---------------|-----|------|-----|------|-----|
| | | | b1 | b2 | b3 | b5 | b6 | b9 |
| 华凤仙 | A4 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | +++ | +++ | ++ | +++ | - | - |
| <i>I. chinensis</i> L. | A8 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | ++ | ++ | - | - | +++ | + |
| | A9 | 无孢类群 Sterile mycelia 3 | - | - | ++ | - | +++ | + |
| | A10 | 革壳孢属 <i>Catinula</i> sp. | - | - | ++ | - | - | - |
| | A11 | 壳二孢属 <i>Ascochyta</i> sp. | - | ++ | - | - | - | +++ |
| | A12 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | - | - | ++ | - | ++++ | - |
| | A13 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | - | - | ++++ | - | +++ | ++ |
| | A16 | 地霉属 <i>Geotrichum</i> sp. | - | ++ | - | +++ | ++ | - |
| | A17 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | - | - | - | - | ++++ | - |
| | A18 | 无孢类群 Sterile mycelia 3 | ++ | + | +++ | - | +++ | - |
| | A27 | 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. | ++ | - | ++ | ++ | - | ++ |
| 问荆 <i>E. arvense</i> L. | A31 | 无孢类群 Sterile mycelia 1 | - | - | +++ | - | +++ | - |
| | A37 | 地霉属 <i>Geotrichum</i> sp. | - | - | ++ | - | ++ | - |
| | A38 | 曲霉属 <i>Aspergillus</i> sp. | - | - | +++ | - | ++++ | ++ |
| | D6 | 链格孢属 <i>Sirodesmium</i> sp. | +++ | - | - | ++ | - | - |
| | D19 | 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. | ++ | - | ++++ | - | - | - |
| | D22 | 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. | + - | - | - | + | - | - |
| | D35 | 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. | ++ | - | - | - | ++ | - |
| | D44 | 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. | - | + | - | - | - | +++ |
| 轮叶狐尾藻 <i>M. verticillatum</i> L. | D46 | 无孢类群 Sterile mycelia 2 | ++ | - | + | ++ | +++ | ++ |
| | D61 | 头孢霉属 <i>Cephalosporium</i> sp. | ++ | - | - | - | - | - |
| | D66 | 无孢类群 Sterile mycelia 2 | - | - | ++++ | - | ++ | ++ |
| | D68 | 地霉属 <i>Geotrichum</i> sp. | - | - | ++++ | - | ++++ | ++ |
| | D71 | 毛茎点霉属 <i>Chaetophoma</i> sp. | ++ | - | ++ | ++ | - | ++ |
| | E1 | 木霉属 <i>Trichoderma</i> sp. | ++ | - | - | ++ | - | ++ |
| | E2 | 木霉属 <i>Trichoderma</i> sp. | - | - | - | ++ | ++ | ++ |
| | E4 | 木霉属 <i>Trichoderma</i> sp. | - | ++ | + | + | ++ | ++ |
| 注: b1: 杨桃炭疽菌; b2: 立枯丝核菌; b3: 香蕉疫霉; b5: 香石竹疫霉; b6: 腐皮镰刀菌; b9: 黑曲霉; -: 抑菌圈直径 d < 6 mm; +: 6 mm < d < 10 mm; ++: 10 mm < d < 15 mm; +++: 15 mm < d < 20 mm; +++++: d > 20 mm. Note: b1: <i>C. gloeosporioides</i> ; b2: <i>R. solani</i> ; b3: <i>P. nicotianae</i> ; b5: <i>P. nicotianae</i> var. <i>parasitica</i> ; b6: <i>F. solani</i> ; b9: <i>A. niger</i> ; -: Diameter of inhibition zone < 6 mm; +: Diameter of inhibition zone in 6 mm~10 mm; ++: Diameter of inhibition zone in 10 mm~15 mm; +++: Diameter of inhibition zone in 15 mm~20 mm; +++++: Diameter of inhibition zone > 20 mm. | E9 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | +++ | ++ | +++ | - | - | - |
| | E10 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | + | - | - | - | +++ | +++ |
| | E11 | 无孢类群 Sterile mycelia 2 | - | + | - | - | + | - |
| | E13 | 叶点霉属 <i>Phyllosticta</i> sp. | - | - | - | - | - | ++ |
| | E19 | 叶癌菌属 <i>Melasmaia</i> sp. | - | - | + | - | +++ | - |
| | E21 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | +++ | - | ++++ | - | - | +++ |
| | E30 | 头珠霉属 <i>Oedocephalum</i> sp. | ++ | - | ++++ | - | ++++ | - |
| | E31 | 无孢类群 Sterile mycelia 3 | +++ | - | - | - | - | + |
| | E34 | 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | - | - | ++ | ++ | - | +++ |
| | E35 | 地霉属 <i>Geotrichum</i> sp. | - | - | +++ | - | +++ | ++ |

注: b1: 杨桃炭疽菌; b2: 立枯丝核菌; b3: 香蕉疫霉; b5: 香石竹疫霉; b6: 腐皮镰刀菌; b9: 黑曲霉; -: 抑菌圈直径 d < 6 mm;

+: 6 mm < d < 10 mm; ++: 10 mm < d < 15 mm; +++: 15 mm < d < 20 mm; +++++: d > 20 mm.

Note: b1: *C. gloeosporioides*; b2: *R. solani*; b3: *P. nicotianae*; b5: *P. nicotianae* var. *parasitica*; b6: *F. solani*; b9: *A. niger*; -: Diameter of inhibition zone < 6 mm; +: Diameter of inhibition zone in 6 mm~10 mm; ++: Diameter of inhibition zone in 10 mm~15 mm; +++: Diameter of inhibition zone in 15 mm~20 mm; +++++: Diameter of inhibition zone > 20 mm.

表 3 三种水生植物内生真菌抗菌活性菌株属的分布
Table 3 The genera distribution of antipathogenic endophytic fungi from three aquatic plants

| 属 Genera | 华凤仙 <i>I. chinensis</i> L. | 问荆 <i>E. arvense</i> L. | 轮叶狐尾藻 <i>M. verticillatum</i> L. |
|---------------------------------|-------------------------------|----------------------------|-------------------------------------|
| 枝孢属 <i>Cladosporium</i> sp. | 5 | 0 | 4 |
| 木霉属 <i>Trichoderma</i> sp. | 0 | 0 | 3 |
| 地霉属 <i>Geotrichum</i> sp. | 2 | 1 | 1 |
| 无孢类群 Sterile mycelia | 3 | 2 | 2 |
| 革壳孢属 <i>Catinula</i> sp. | 1 | 0 | 0 |
| 镰孢霉属 <i>Fusarium</i> sp. | 1 | 4 | 0 |
| 头珠霉属 <i>Oedocephalum</i> sp. | 0 | 0 | 1 |
| 毛茎点霉属 <i>Cephalosporium</i> sp. | 0 | 1 | 0 |
| 曲霉属 <i>Aspergillus</i> sp. | 1 | 0 | 0 |
| 叶点霉属 <i>Phyllosticta</i> sp. | 0 | 0 | 1 |
| 壳二孢属 <i>Ascochyta</i> sp. | 1 | 0 | 0 |
| 叶痣菌属 <i>Melasmaia</i> sp. | 0 | 0 | 1 |
| 链格孢属 <i>Sirodesmium</i> sp. | 0 | 1 | 0 |
| 头孢霉属 <i>Cephalosporium</i> sp. | 0 | 1 | 0 |
| 总计 Total | 14 | 10 | 13 |

2.3 抗菌活性菌株的宿主分布

155 株供试菌株中, 共有 37 株内生真菌对一种或多种指示菌显示了抑菌活性(占分离菌株总数的 23.9%), 华凤仙、问荆和轮叶狐尾藻内生真菌的活性菌株的比例分别为 29.2%、13.9%、37.1%(表 2 和表 4)。这表明, 水生植物内生真菌中存在着广泛的抗真菌活性资源。

由表 2 和表 4 可以看出, 3 种植物内生真菌活性菌株的分布有较大差别。其中华凤仙内生真菌中高活性菌株($d > 15 \text{ mm}$)所占比例最高, 达到 22.9%, 问荆中的最少, 只有 6 株(8.3%)。

3 讨论

从华凤仙、问荆和轮叶狐尾藻 3 种植物分离得

到的 155 株供试菌株中, 共有 37 株内生真菌对一种或多种指示菌显示了抗菌活性, 活性菌株比率为 23.9%, 3 种水生植物内生真菌活性菌株的比率分别为 29.2%、13.9%、37.1%。这与水生植物类群中的红树林植物^[22]和盐碱地植物^[23]内生真菌的活性菌株的比率接近(活性菌株比率分别为 13.8% 和 24.1%)。而王耀坚等^[24]从药用植物三尖杉、南方红豆杉、香榧中分到内生真菌 172 株, 共有 90 株内生真菌对一种或多种指示菌有抑制作用, 活性菌株比率为 52.3%, 3 种植物内生真菌活性菌株的比率分别为 40%、54% 及 57%。秦盛^[25]等从 3 种仙人掌中分离到内生真菌 111 株, 其中 49 株内生真菌对一种或多种指示菌有抑制作用, 占总分离菌株数的 44.1%, 3 种植物内生真菌活性菌株的比率分别为 48.4%、

表 4 三种水生植物内生真菌的抑菌活性及宿主分布
Table 4 Antipathogenic activities and host distribution of endophytic fungi from three aquatic plants

| 宿主植物 Host plant | 分离菌株(株) No. of isolates (strain) | 抗菌活性菌株(%) Antifungal active fungi (%) | 活性菌株的分布(株) The distribution of antifungal active fungi (strain) | | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|--|--|---|---|----|
| | | | A | B | C | D |
| 华凤仙 <i>I. chinensis</i> L. | 48 | 14(29.2%) | 34 | 0 | 3 | 11 |
| 问荆 <i>E. arvense</i> L. | 72 | 10(13.9%) | 62 | 1 | 3 | 6 |
| 轮叶狐尾藻 <i>M. verticillatum</i> L. | 35 | 13(37.1%) | 22 | 2 | 3 | 8 |
| 总计 Total | 155 | 37(23.9%) | 121 | 3 | 9 | 25 |

注: A: 无抗菌活性; B: 抑菌圈直径 $d < 10 \text{ mm}$; C: $10 \text{ mm} \leq d \leq 15 \text{ mm}$; D: $d > 15 \text{ mm}$ 。

Note: A: No inhibitory activity; B: Diameter of inhibition zone $< 10 \text{ mm}$; C: Diameter of inhibition zone in $10 \text{ mm} \sim 15 \text{ mm}$; D: Diameter of inhibition zone $> 15 \text{ mm}$.

42.9%及42.3%。以上研究结果表明,水生植物内生真菌中的抗菌活性菌株比率远远低于高等陆生植物内生真菌中的抗菌活性菌株比率。我们认为这可能是由环境因素引起的。与陆生生态系统相比,水生生态系统中的营养成分较低,生态系统比较单一,物种较少,竞争力相对较低,所以大部分水生植物内生真菌的作用可能主要与植物固氮和营养成分的吸收有关,只有少数内生真菌与宿主植物的抗逆性有关,因此筛选出的活性菌株的数量也就相对较少。

在所分离到的3种水生植物内生真菌中,枝孢属菌株占较大的比例,占总数的25.8%。而且3种水生植物的活性菌株也是以枝孢属菌株为主。因此枝孢属的存在可能与水生植物的抗逆性之间有一定的联系,需要进一步研究分析。此外,在本项研究中发现,菌株A4、A13、A38、D68、E21、E30不仅具有广谱抗菌活性,而且它们对部分病原真菌有较强的抑菌活性,有的抑菌圈直径达到了20 mm以上。因此有必要进一步研究其代谢产物中的抑菌成分,化学结构,理化性质及作用机理,为水生植物内生真菌抗菌活性物质的开发利用奠定基础。

参 考 文 献

- [1] 周 捷, 曹 诚. 水生植物对湖泊生态系统的影响. 人民长江, 2008, **39**(6): 88–91.
- [2] Stone JK, Bacon CW, White JF. An overview of endophytic microbes: endophytism defined. In: Microbial Endophytes, eds. Bacon CW and White JF Jr. New York: Marcel Dekker, 2000, pp.3–29.
- [3] 梁 宇, 高玉葆. 内生真菌对植物生长发育及抗逆性的影响. 植物学通报, 2000, **17**(1): 52–59.
- [4] Arnold AE, Lewis LC. Evolution of fungal endophytes and their roles against insects. In Ecological and evolutionary advances in insect-fungus associations. Edited by F. Vegan and M. Blackwell. Oxford: Oxford University Press, 2005, pp.74–96.
- [5] Herre EA, Mejía LC, Kyllo DA, et al. Ecological implications of anti-pathogen effects of tropical fungal endophytes and mycorrhizae. *Ecology*, 2007, **88**(3): 550–558.
- [6] Redman R, Sheehan KB, Stout RG, et al. Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science*, 2002, **298**: 1581.
- [7] Schulz B, Boyle C. The endophytic continuum. *Mycol Res*, 2005, **109**(6): 661–686.
- [8] Strobel GA. Endophytes as sources of bioactive products. *Microb Infect*, 2003, **5**: 535–544.
- [9] Schulz B, Boyle C, Draeger S, et al. Endophytic fungi: a source of biologically active secondary metabolites. *Mycol Res*, 2002, **106**: 996–1004.
- [10] Strobel G, Daisy B. Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, **67**: 491–502.
- [11] Bugni TS, Ireland CM. Marine-derived fungi: a chemically and biologically diverse group of microorganisms. *Nat Prod Rep*, 2004, **21**(1): 143–163.
- [12] Lin Z, Zhu T, Fang Y, et al. Polyketides from *Penicillium* sp. JP-1, an endophytic fungus associated with the mangrove plant *Aegiceras corniculatum*. *Phytochemistry*, 2008, **69**(5): 1273–1278.
- [13] Kumaresan V, Suryanarayanan TS. Occurrence and distribution of endophytic fungi in mangrove community. *Mycol Res*, 2001, **105**(11): 1388–1391.
- [14] Suryanarayanan TS, Kumaresan V. Endophytic fungi of some halophytes from an estuarine mangrove forest. *Mycol Res*, 2000, **104**(12): 1465–1467.
- [15] Cornick J, Standwerth A, Fisher PJ. A preliminary study of fungal endophyte diversity in a stable and declining bed of *Spartinaanglica* Hubbard. *Mycologist*, 2005, **19**(1): 24–29.
- [16] Arnold AE, Maynard Z, Gilbert GS, et al. Are tropical fungal endophytes hyperdiverse? *Ecology Lett*, 2000, **3**: 267–274.
- [17] Barnett HL, Hunter BB. 1987 Illustrated Genera of Imperfect Fungi, New York: Macmillan Publishing Company, 1987, pp.61–196.
- [18] Petrini O, tone J, Carroll FE. Endophytic fungi in evergreen shrubs in Western Oregon: a preliminary study. *Can J Bot*, 1982, **60**: 789–796.
- [19] Li HY, Qing C, Zhao ZW. Screening for endophytic fungi with antitumor and antifungal activities from Chinese medicinal plants. *World J Microbiol Biotechnol*, 2005, **21**: 1515–1519.
- [20] Verma VC, Gond SK, Kumar A, et al. The endophytic mycoflora of bark, leaf, and stem tissues of *Azadirachta indica* A. Juss (neem) from Varanasi (India). *Microb Ecol*, 2007, **54**(1): 119–125.
- [21] Photita W, Lumyong S, Lumyong P, et al. Endophytic fungi of wild banana (*Musa acuminata*) at Doi Suthep Pui National Park, Thailand. *Mycol Res*, 2001, **105**(12): 1508–1513.
- [22] 杨丽珊, 黄耀坚, 郑忠辉, 等. 红树植物内生真菌的种群动态及生物活性. 厦门大学学报, 2006, **45**: 95–99.
- [23] Pelaez F, Collado J, Arenal F, et al. Endophytic fungi from plants living on gypsum soils as a source of secondary metabolites with antimicrobial activity. *Mycol Res*, 1998, **102**(6): 755–761.
- [24] Huang YJ, Wang JF, Li GL, et al. Antitumour and antifungal activities in endophytic fungi isolated from pharmaceutical plants *Taxus mairei*, *Cephalotaxus fortunei* and *Torreya grandis*. *FEMS Immunol Med Microbiol*, 2001, **31**(2): 163–167.
- [25] 秦 胜, 刑 珂, 吴少华, 等. 3种仙人掌植物内生真菌抑菌活性的研究. 中草药, 2006, **37**(6): 917–921.